

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日:  
2002年9月6日(06.09.02)

PCT

(10) 国际公布号:  
WO 02/67949 A1

(51) 国际分类号<sup>7</sup>: A61K 31/7008, A61P 9/10

(21) 国际申请号: PCT/CN02/00123

(22) 国际申请日: 2002年2月28日(28.02.02)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
01104893.X 2001年2月28日(28.02.01) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国人民解放军第三军医大学(THIRD MILITARY MEDICAL UNIVERSITY, CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY, P.R. OF CHINA) [CN/CN]; 中国四川省重庆市沙坪坝区高滩岩正街30号, Sichuan 400038 (CN)。苏州市巴微医药开发研究所有限公司(BIO-WAVE INSTITUTE OF SUZHOU HI-TECH NEW DISTRICT CORPORATION, LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市新区滨河路125号5F, Jiangsu 215011 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 徐启旺(XU, Qiwang) [CN/CN]; 刘俊康(LIU, Junkang) [CN/CN]; 袁泽涛(YUAN, Zetao) [CN/CN]; 中国四川省重庆市沙坪坝区高滩岩正街30号, Sichuan 400038 (CN)。

(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所(CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市复兴门内大街158号远洋大厦10层, Beijing 100031 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:

— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: THE USE OF N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE IN THE MANUFACTURE OF PHARMACEUTICAL USEFUL FOR TREATING CARDIO-CEREBROVASCULAR ANOXEMIA

(54) 发明名称: N-乙酰-D-氨基葡萄糖在制备心脑血管缺血、缺氧药物中的应用

(57) Abstract: The present invention disclose the use of N-acetyl-D-glucosamine in the manufacture of pharmaceutical useful for treating cardio-cerebrovascular anoxemia. N-acetyl-D-glucosamine is able to notably prolong the life time of experimental animal under the condition of cerebrovascular ischemia and the environment of normal pressure and oxygen deficit, to reduce the degree of encephaledema after reperfusion in cerebrovascular ischemia and the other symptom of neural behavior.

(57) 摘要

本发明公开了N-乙酰-D-氨基葡萄糖在制备抗心脑血管缺血、缺氧药物中的应用。N-乙酰-D-氨基葡萄糖能显著延长实验动物在脑缺血及常压缺氧环境中的存活时间, 降低脑缺血再灌注后造成的脑水肿程度及其它的神经行为症状。



WO 02/67949 A1

## N-乙酰-D-氨基葡萄糖在制备心脑血管抗 缺血、缺氧药物中的应用

### 技术领域

本发明涉及N-乙酰-D-氨基葡萄糖和其药物可接受的盐在制备抗心脑血管缺血、缺氧药物中的应用。

### 背景技术

心脑血管缺血、缺氧在临床上是比较常见的现象，如由于心脏冠状动脉狭窄或阻塞造成的心肌缺血缺氧的心脏病，及由于脑血管狭窄或阻塞造成的以缺血缺氧为特征的脑病，如脑部栓塞等。这是一类严重影响人类生命健康的疾病。长期以来人们一直在寻求各种能有效治疗心脑血管缺血、缺氧相关疾病的药物。

本发明人在进行“生物波”理论的研究过程中，建立了细菌波动生长模型。经过研究认识到这种波动有其内在的调节机制：某些化学物质参与生物波动过程的调节，把病态的周期性慢波转变成正常的生理性混沌快波，这类物质称为促波因子。经分离提纯和鉴定，确定有一种因子为N-乙酰-D-氨基葡萄糖，其促波作用与其对细胞的润滑和保护作用有关。人体的许多生化和生理过程需要促波因子的参与，当体内这种促波因子缺乏时则会导致异常状况。

N-乙酰-D-氨基葡萄糖是一种化学试剂，二十世纪九十年代以来陆续被用于治疗牙周炎(WO9102530A1)、微生物感染(WO9718790A3)、炎性肠病(WO9953929A1)、角膜疾病(JP10287570A2)、前列腺肥大(US05116615)等疾病以及美容(JP59013708A2)、洗发制剂(JP2011505A2)等，但目前尚无在制备抗心脑血管缺血、缺氧药物方面的应用。

本发明现令人惊异地发现N-乙酰-D-氨基葡萄糖能显著延长实验

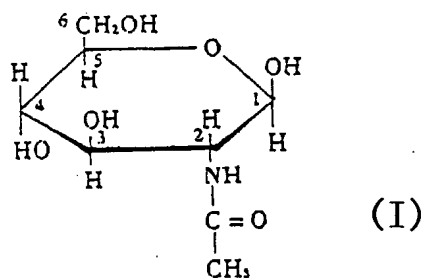
动物在脑缺血及常压缺氧环境中的存活时间，降低脑缺血再灌注后造成的脑水肿程度及减轻神经行为症状。因而可用于人和动物抗心脑血管缺血、缺氧状态，治疗或预防心脑血管缺血、缺氧相关的疾病。

### 发明内容

因此，本发明涉及N-乙酰-D-氨基葡萄糖和其药物可接受的盐在制备抗心脑血管缺血、缺氧药物中的应用。

另一方面，本发明涉及一种预防或治疗心脑血管缺血、缺氧相关疾病的方法，包括给予有此需要的患者预防或治疗有效量的N-乙酰-D-氨基葡萄糖或其药物可接受的盐。

N-乙酰-D-氨基葡萄糖，分子式为 $C_8H_{15}NO_6$ ，结构表示如下：



N-乙酰-D-氨基葡萄糖可以在市场上买到或可以按已知方法制得。例如，专利申请W097/31121公开了一种从壳多糖酶法制备N-乙酰-D-氨基葡萄糖的方法。日本专利申请JP63273493公开了一种将壳多糖部分酸水解为N-乙酰-壳寡糖，然后用酶处理得到N-乙酰-D-氨基葡萄糖的方法。

在N-乙酰-D-氨基葡萄糖的药物可接受的盐中，可提及与药物可接受的酸形成的那些，例如与无机酸形成的那些，如盐酸盐、氢溴酸盐、硼酸盐、磷酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐和磷酸氢盐，以及与有机酸形成的那些，如柠檬酸盐、苯甲酸盐、抗坏血酸盐、甲基硫酸盐、茶-2-磺酸盐、苦味酸盐、富马酸盐、马来酸盐、丙

二酸盐、草酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐、羟乙磺酸盐、 $\alpha$ -酮戊二酸盐、 $\alpha$ -甘油磷酸盐和葡萄糖-1-磷酸盐。

本发明化合物通常可经口服、胃肠外、舌下或透皮给药，优选通过胃肠外或口服给药。在根据本发明方法治疗心脑血管缺血、缺氧相关疾病中，给药的活性成分的量取决于治疗的疾病的特性和严重性以及病人的体重。对于成人，注射给药的参考剂量为约 2.5mg/kg。口服给药的参考剂量为约 5 mg/kg。

在本发明用于口服、舌下、皮下、肌肉内、静脉内、透皮或直肠给药的治疗上述适应症的药物组合物中，活性成分可以以给药单位形式施用于动物和人，如为冷冻干燥形式或与常规的药物载体混合。适宜的给药单位形式包括口服形式，如口服的可分散片剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂和溶液剂或悬浮剂、经舌下和颊给药的形式、皮下、肌肉内或静脉内给药形式、局部给药形式和直肠给药形式。优选胃肠外和口服给药的制剂，特别是注射液、片剂和胶囊剂。

片剂形式的固体组合物通过将主要活性成分与药物赋形剂混合，如与明胶、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、滑石、阿拉伯树胶等。片剂可被涂覆有蔗糖或其它适宜的物质，或处理它们以具有持续和延迟的作用以及连续释放预定量的活性成分。

通过将活性成分与稀释剂混合并将产生的混合物装入软或硬的胶囊中来获得胶囊形式的制剂。

糖浆或池剂形式的制剂可包含活性成分和最好不含卡路里的增甜剂、作为防腐剂的羟苯甲酸甲酯和羟苯甲酸丙酯以及增香剂和适宜的色料。

可用水分散的粉剂和颗粒剂可包含活性成分，并混有分散剂或湿润剂，或悬浮剂如聚乙烯吡咯烷酮，和增甜剂或味道调节剂。

使用栓剂进行直肠给药，其中栓剂用在直肠温度下熔化的粘合剂制成，例如可可油或聚乙二醇。

使用本发明化合物的可注射无菌水溶液、盐溶液、醇溶液或均匀悬液可以进行胃肠外给药。

### 本发明的最佳实施方式

以下试验实施例证明本发明化合物（式（I）化合物）抗心脑血管缺血、缺氧的效力和低毒性。

#### 一、N-乙酰-D-氨基葡萄糖对脑缺血再灌注大鼠的保护作用

##### 1. 动物：

Wistar大鼠 第三军医大学动物所提供，雌雄各半

2. 造模方法：四动脉结扎法造成大鼠脑缺血模型，对每只大鼠，用电凝器将第二颈椎椎孔内的椎动脉热凝阻断，然后分离其前侧两条颈总动脉，分出后，留置手术线套，缝合。第二天，待动物麻醉恢复后，打开前侧缝线，以动脉夹夹闭两条颈总动脉，计时共20min。以夹闭过程中动物出现抽搐、大小便失禁等明显症状者作为模型动物继续观察，而未出现此症状的则淘汰。

##### 3. 分组：动物共分四组（每组8只）

N-乙酰-D-氨基葡萄糖组：即于大鼠夹闭颈动脉前30min，以0.25g/kg剂量给予N-乙酰-D-氨基葡萄糖。

黄芪组：即在动物处理前给予2g/kg黄芪注射液，腹腔注射。

黄芪+N-乙酰-D-氨基葡萄糖组：即夹闭前30min，给予0.025g/kg NGA和2g/kg黄芪的混合注射液，腹腔注射。

对照组：不给予任何药物，注射相同容积的生理盐水。

各组动物均给予标准喂养，并在手术过程中注意无菌操作。

##### 4. 观察指标

存活情况

脑部含水量(干湿重法)异常比率:

神经行为症状评分

0分: 无神经缺损症状, 活动正常

1分: 不能完成伸展对侧前爪

2分: 行走时身体向偏瘫侧转圈

3分: 向偏瘫侧倾倒

4分: 不能自发行走, 意识丧失

## 5. 结果:

### 5.1存活情况:

对照组62.5%; N-乙酰-D-氨基葡萄糖组87.5%; 黄芪组75%; 混合组75%

### 5.2脑部含水量:

对照组70.84%; N-乙酰-D-氨基葡萄糖组 66.2%; 黄芪组69.53% 黄芪+AWA:65.8%

### 5.3异常比率:

对照组 75%; N-乙酰-D-氨基葡萄糖组50%; 黄芪组50%; 混合组62.5%

## 6. 结论:

以四动脉结扎法造成大鼠脑缺血模型, 以0.025g. kg<sup>-1</sup>剂量给予N-乙酰-D-氨基葡萄糖后, 大鼠脑缺血再灌注所造成的脑水肿程度显著降低, 相应的神经症状亦较轻, 而生存率显著提高。

## 二、N-乙酰-D-氨基葡萄糖耐缺氧作用的实验研究

### 1. 常压缺氧模型:

将小鼠放入容积为200ml装有钠石灰20g的密闭玻璃干燥器内观察存活时间。

### 2. 动物:

昆明种小鼠，第三军医大学动物所提供

3. 分组:

两组共24只, 实验组在实验前二周, 每日灌胃给予N-乙酰-D-氨基葡萄糖, 剂量为0.05g/kg, 对照组正常喂养。

4. 结果:

实验组平均存活时间显著长于对照组。

5 结论:

N-乙酰-D-氨基葡萄糖显著提高小鼠耐缺氧能力。

三、式(I)化合物的毒理试验包括:

1. 急性毒性试验: 包括口服、静脉注射和最大极限量给药试验;
2. Ames试验;
3. 小鼠骨髓细胞微核试验;
4. 鼠精子畸性试验
5. 小鼠睾丸染色体畸变试验;
6. 慢性致死试验;
7. 亚慢性毒性(90天喂养)试验;
8. 传统致畸试验;

试验结论表明: 式(?)化合物急性毒性试验剂量超过2g/kg, 是人注射剂量的300倍, 仍未出现急性中毒反应; 在长期毒性试验中, 最高剂量已达到1g/kg, 经四周试验观察, 未出现中毒反应; 在生殖试验中, 从常规剂量7mg/kg喂小鼠, 经三次传代, 证明式(I)化合物对小鼠受孕妊娠、分娩、哺乳及仔鼠发育均无影响。证明式(I)化合物属无毒物质。

## 权 利 要 求

1. N-乙酰-D-氨基葡萄糖在制备抗心脑血管缺血、缺氧药物中的应用。
2. 权利要求1的应用，其中所述药物为注射液、片剂或胶囊形式的药物制剂。



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN02/00123

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7): A61K31/7008, A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC(7): A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

CHINESE PATENT DOCUMENTATION

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI(Derwent), CNPAT(CN), PAJ(JP), EPODOC(EP), CHEMICAL ABSTRACT(US)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN1156026A(THIRD MILITARY MEDICAL UNIVERSITY, CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY, P.R. OF CHINA)06. Aug.1997(06.08.97), WHOLE DOCUMENT	1-2
A	CN1156027A(THIRD MILITARY MEDICAL UNIVERSITY, CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY, P.R. OF CHINA)06. Aug.1997(06.08.97), WHOLE DOCUMENT	1-2
A	CN1156028A(THIRD MILITARY MEDICAL UNIVERSITY, CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY, P.R. OF CHINA) 06. Aug.1997(06.08.97), WHOLE DOCUMENT	1-2
A	WO93/14765A(THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA) 05.Aug.1993(05.08.93), CLAIMS	1-2
A	WO93/18775A(THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA)30.Sept.1993(30.09.93), DISCRIPTION	1-2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 16.Apr.2002(16.04.2002)	Date of mailing of the international search report 23 MAY 2002
Name and mailing address of the ISA/CN 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer ZHAO Xiyuan Telephone No. 010-62093891



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN02/00123

<u>Patent document cite in search report</u>	<u>Publication date</u>	<u>Patent family members</u>	<u>Publication date</u>
CN1156026A	06.08.97	CN1067245C	20.06.01
CN1156027A	06.08.97	NONE	
CN1156028A	06.08.97	CN1067246C	20.06.01
WO93/14765A	05.08.96	US5229374A	20.07.93
		AU3446093A	01.09.93
WO93/18775A	30.09.93	EP0630251A1	28.12.94
		AU3881493A	21.10.93

# 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN02/00123

## A. 主题的分类

IPC(7): A61K31/7008, A61P9/10

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC(7): A61K A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

WPI(derwent), CNPAT(CN), PAJ(JP), EPODOC(EP), CHEMICAL ABSTRACT(US)

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	CN1156026A(中国人民解放军第三军医大学)06.8月1997(06.08.97), 全文	1-2
A	CN1156027A(中国人民解放军第三军医大学)06.8月1997(06.08.97), 全文	1-2
A	CN1156028A(中国人民解放军第三军医大学)06.8月1997(06.08.97), 全文	1-2
A	WO93/14765A(THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA)05.8月1993(05.08.93), 权利要求书	1-2
A	WO93/18775A(THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA)30.9月1993(30.09.93), 说明书	1-2

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

16.4月2002(16.04.2002)

国际检索报告邮寄日期

23.5月2002(23.05.02)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路6号(100088)

传真号: 86-10-62019451

授权官员

赵喜元

电话号码: 86-10-62093891



国际检索报告  
关于同族专利成员的情报

国际申请号  
PCT/CN02/00123

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
CN1156026A	06.08.97	CN1067245C	20.06.01
CN1156027A	06.08.97	无	
CN1156028A	06.08.97	CN1067246C	20.06.01
WO93/14765A	05.08.93	US5229374A	20.07.93
		AU3446093A	01.09.93
WO93/18775A	30.09.93	EP0630251A1	28.12.94
		AU3881493A	21.10.93